

孔雀绿磷酸盐检测试剂盒

产品货号：26731

产品规格：500T/2500T

产品简介：

孔雀绿磷酸盐检测试剂盒是一种快速、便捷、高灵敏地测定溶液中可溶性自由无机磷酸根试剂盒。本试剂盒可用于溶液中磷酸盐浓度的测定、ATP酶(ATPase)活性检测等。

本试剂盒的检测原理是孔雀绿(Malachite green)、钼酸盐(Molybdate)和游离的无机正磷酸盐(Orthophosphate)形成绿色磷钼酸复合物(Molybdophosphoric acid complex)，而这种绿色磷钼酸复合物在620-640nm处的吸光度与溶液中游离的无机磷酸盐浓度成正比。本试剂盒的检测原理参考图1。



图1. 孔雀绿磷酸盐检测试剂盒的检测原理图。

本试剂盒提供了一种高灵敏度定量检测无机游离磷酸盐的可靠方法，但本试剂盒只适合于直接测定溶液中的自由磷酸根，对于脂和蛋白所结合的磷酸根必须在测定之前采用一定的方法进行释放才可以检测。

本试剂盒可以运用于96孔板、384孔板或比色皿中进行分析测定或高通量筛选。

本试剂盒操作简单、检测速度快，仅需约30min即可完成无机磷酸盐的测定。

本试剂盒检测灵敏度高、线性范围广，在0.1-10nmol范围内有良好的检测灵敏度和线性关系。标准品在0-10nmol和0-2nmol范围内的检测效果请参考图2。

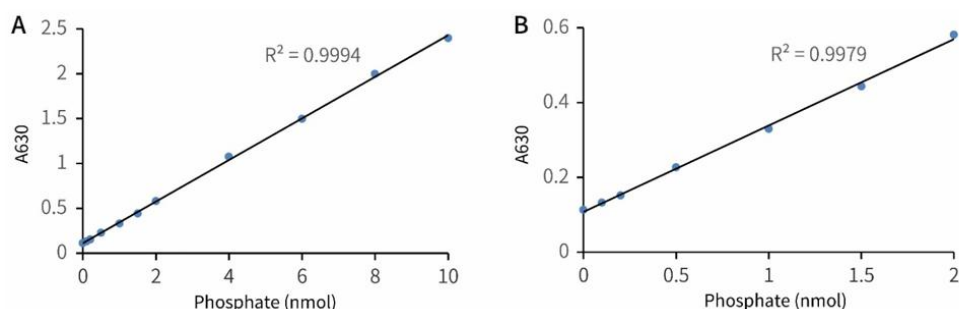


图2. 孔雀绿磷酸盐检测试剂盒的标准曲线效果图。将磷酸盐标准品按照说明书中的描述分别稀释后，加入显色剂混匀，室温反应30min。在630nm处测定吸光度并最终绘制成标准曲线。A. 在0-10nmol范围内的标准曲线。B. 在0-2nmol范围内的标准曲线。实际结果因实验条件、检测仪器等的不同而存在差异，图中数据仅供参考。

产品内容：

产品名称	500T	2500T	保存条件
Malachite Green Reagent A	24ml	120ml	2-8℃，避光
Malachite Green Reagent B	12ml	60ml	2-8℃
5mM Phosphate Standard	0.4ml	2ml	2-8℃

使用说明：

1. 磷酸盐标准品的制备。

将5mM磷酸盐标准液配制成50μM磷酸盐工作液。例如取10μl的5mM磷酸盐标准液，加入990μl标准品稀释液，即得1ml 50μM磷酸盐工作液。标准品稀释液优先推荐使用去离子水或双蒸水。稀释后的工作液可在4℃至少稳定一天。若使用自行准备的试剂稀释标准品，需确保该试剂没有磷酸盐污染。

2. 显色剂的配制。

根据样本的数量，计算需要配制显色剂的体积。Malachite Green Reagent A和Malachite Green Reagent B的使用比例为2:1。例如，20ml Malachite Green Reagent A和10ml Malachite Green Reagent B混合即可获得30ml显色剂。该显色剂在4℃避光保存，可稳定一天。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

3. 标准曲线的设置。

按照下表配制0、1、2.5、5、10、20、30、40、50 μ M磷酸盐标准品。

序号	50 μ M Phosphate (μ l)	H ₂ O (μ l)	Phosphate (μ M)	Phosphate(nmol/200 μ l)
1	0	200	0	0
2	4	196	1	0.2
3	10	190	2.5	0.5
4	20	180	5	1
5	40	160	10	2
6	80	120	20	4
7	120	80	30	6
8	160	40	40	8
9	200	0	50	10

4. 磷酸盐浓度的检测。

- 加入适量体积的待测样品到 1.5ml 离心管中，若样品体积不足 200 μ l，则用标准品稀释液补齐至 200 μ l，记录样品此时的稀释倍数。
- 从每管中依次吸取 200 μ l 不同浓度的磷酸盐标准品和待测样品加到 96 孔板的样品孔中。
- 各孔加入 70 μ l 显色剂，使用多孔板混匀设备混匀或使用移液器轻轻吹打混匀，室温静置 30min。
- 用酶标仪测定 630nm 的吸光度。
- 根据标准曲线和待测样品的稀释倍数计算出样品的磷酸盐浓度。

常见问题：

1. 如何降低实验中过高的背景？

孔雀绿磷酸盐检测试剂盒是高灵敏的磷酸盐检测方法。任何外源性的游离磷酸盐都会干扰检测，所以必须确保标准品稀释液和实验室容器中不含有游离磷酸盐。在实验前，所有使用的实验容器均要用蒸馏水或去离子水充分地清洗。

2. 如何去除水溶液中的沉淀？

- 二价阳离子(钙、镁、铜和锌)形成的磷酸盐具有低水溶性。为避免沉淀，磷酸盐标准品应使用双蒸水或不含钙、镁、铜和锌等会和磷酸根产生沉淀的阳离子的缓冲液进行稀释。
- 样本中磷酸盐浓度过高，也会形成沉淀，建议对样本进行适当稀释后再进行磷酸盐检测。

注意事项：

- 显色试剂须现配现用，配制后可以在 4 $^{\circ}$ C 保存一天。试剂在使用前必须恢复至室温。
- 本试剂盒如果误置于-20 $^{\circ}$ C 保存等原因导致结冻，Malachite Green Reagent B 须在 95 $^{\circ}$ C 加热至完全溶解并混匀后使用，其余两种试剂常规解冻并混匀后即可使用。
- 本实验测定波长在 620-660nm 之间，630nm 最佳。如果没有酶标仪，也可使用分光光度计进行测定。在这种情况下，需按比例调整显色剂、样本、标准品的体积，使最终待测体积符合比色皿的最小检测体积。
- 本说明书中所述的加样体积以 96 孔板为例，若选择比色皿或 384 孔板，应按比例调整体积。
- 实验室清洁剂含有高浓度的磷酸盐，需确保实验器皿彻底清洗，防止磷酸盐污染。
- 为获得更好的检测效果，推荐对于所有的磷酸盐标准品和待测样品设置平行孔或三复孔。
- 如果检测出来的吸光度偏低，可能是样品中磷酸盐含量较低，需要考虑在本试剂盒许可的范围内加大样品的用量。
- Malachite Green Reagent A 呈强酸性，有腐蚀性，操作时请小心，并确保有效防护以避免直接接触人体，并须注意避免腐蚀其它物品。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

保存条件：

4 $^{\circ}$ C 保存，一年有效。Malachite Green Reagent A 需要 4 $^{\circ}$ C 避光保存。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com